

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1970

THÈSE

N°

1017

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Christine NATHAN, née BAUTRUCHE

Interne des Hôpitaux de Paris

Née le 25 octobre 1938, à La Tronche (Isère)

Présentée et soutenue publiquement le

197

Le facteur lipomobilisateur d'origine hypophysaire

Président : M. LAROCHE, Professeur

PARIS — 1970

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1970

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Christine NATHAN, née BAUTRUCHE

Interne des Hôpitaux de Paris

Née le 25 octobre 1938, à La Tronche (Isère)

Présentée et soutenue publiquement le

197

Le facteur lipomobilisateur d'origine hypophysaire

Président : M. LAROCHE, Professeur

PARIS — 1970



A la mémoire de mon Père

A ma Mère,

A mes Soeurs et à tous les Miens,

A tous mes Amis

Avec tendresse

A mon Mari,

A mes fils Guillaume et Nicolas,

Avec Amour



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551515_0015

A Monsieur le Professeur Claude LAROCHE

Professeur de pathologie médicale,

Chevalier de la Légion d'Honneur,

qui nous a fait l'honneur d'accepter
la présidence de cette thèse.

Qu'il soit assuré de notre attachement
et de notre respectueuse reconnaissance.

A Monsieur le Docteur Ph. CAUDAT,

qui a contribué, par ses conseils et son savoir, à ce travail qui est un peu le sien.

Qu'il trouve ici le témoignage de notre reconnaissance et de notre sincère amitié.

A Monsieur le Professeur Agrégé J. L. De GENNES

qui nous a confié le sujet de cette
thèse,

En témoignage de notre profonde
gratitude pour l'enseignement et
l'orientation qu'il nous a donné.

A nos Maîtres dans les Hôpitaux,

Externat :

Monsieur le Professeur EVEN

Monsieur le Professeur Cl. LAROCHE

Monsieur le Professeur F. LHERMITTE

Monsieur le Professeur H. BRICAIRE

Monsieur le Professeur P. MILLIEZ

Monsieur le Professeur P. ABOULKER

Internat :

Monsieur le Docteur LOEWI

Monsieur le Professeur LACOMME

Monsieur le Professeur Agrégé J. CANIVET

Monsieur le Docteur Y. BARRE

Monsieur le Professeur J. DECOURT

Monsieur le Professeur Cl. LAROCHE

Monsieur le Professeur H. BRICAIRE

Monsieur le Professeur Gilbert BREYFUS

A nos Maîtres dans les Hôpitaux,

Monsieur le Professeur Agrégé G. LELORIER

Monsieur le Professeur Agrégé J. L. De GENNES

Monsieur le Professeur Agrégé P. MAUVAIS-JARVIS

Monsieur le Docteur J. LEPRAT

Monsieur le Docteur J. COMPARET

Monsieur le Docteur J. JOLY

Monsieur le Docteur PEILLON.

A Monsieur le Docteur J. JOLY,
notre conférencier d'externat et d'internat,

qui guida nos premiers pas avec
sollicitude.

Qu'il trouve ici l'expression de
notre profonde reconnaissance et
de notre fidèle amitié.

LE FACTEUR LIPOMOBILISATEUR
D'ORIGINE HYPOPHYSAIRE

I N T R O D U C T I O N

Les obésités et les maigreurs posent depuis longtemps au clinicien comme au physiologiste, le problème de la régulation du tissu adipeux, et en particulier de la lipolyse.

L'influence de nombreuses hormones (ACTH, STH, Adrénaline surtout) sur la mobilisation des graisses de réserve est connue depuis quelques temps ; mais il ne s'agit, pour toutes ces hormones, que d'une action contingente.

Il était séduisant de concevoir l'existence d'un facteur dont l'action serait spécifiquement lipomobilisatrice ; celui-ci fut recherché aux deux niveaux :

- d'une part dans les urines,
- d'autre part, dans l'hypophyse

L'importance de cette glande étant depuis longtemps soupçonnée du fait des prises de poids constatées au cours de certaines lésions di-encéphalo-hypophysaires : tumeurs, méningites, lésions traumatiques, syndrome adiposo-génital,

Ces différentes études, bien qu'encore très fragmentaires, ont néanmoins abouti à la description d'un facteur d'origine hypophysaire, de nature péphidique, et dont l'organe cible est le tissu adipeux.

L'action de ce facteur est univoque : il augmente de façon significative, la lipolyse.

HISTORIQUE

Dès 1931, ANSELMINO et HOFFMAN préparaient, à partir d'extraits hypophysaires, une substance lipomobilisatrice, distincte de la STH, de l'ACTH et de la TSH.

Au cours des années suivantes, cette idée fut un peu abandonnée, car l'activité lipomobilisatrice fut rattachée aux différentes préparations d'hormones hypophysaires alors connues.

Depuis une dizaine d'années, et surtout depuis 1965, des techniques beaucoup plus précises ont permis de poser à nouveau la question d'une hormone hypophysaire mobilisatrice des graisses.

SEIFFER, en 1957, isole une substance lipomobilisatrice à partir d'hypophyse de porc. RUDMAN en 1960, isole à son tour une substance, la "Fraction "H".

ASTWOOD, FRIESEN & BARRETT, dès 1961, isolent deux peptides, qu'ils dénomment peptide I et peptide II.

Deux auteurs surtout, se sont, et très récemment beaucoup intéressés à la question :

- LI, PAPKOFF et CHRETIEN, dès 1964, préparent une alpha et une bêta hormone lipomobilisatrice (LPH) dont ils déterminent entièrement la composition.

- TRYGSTADT, en 1967, isole le LMF (lipid mobilizing factor) le seul facteur lipolytique hypophysaire isolé chez l'homme.

Des recherches parallèles ont permis l'isolement de facteurs lipomobilisateurs dans les urines.

CHALMERS, KERWICK et PAWAN, dès 1958, ont décrit la FMS (fat mobilizing substance) qui a été retrouvée dans les mêmes conditions par l'équipe de STEVENSON et collaborateurs.

R A P P E L P H Y S I O L O G I Q U E

Le tissu adipeux, très actif, est le siège d'un turnover constant, et son métabolisme comprend deux séries de réactions dont l'équilibre dépend de nombreux facteurs :

- la lipolyse permet la libération des acides gras (AG) stockés dans le tissu adipeux ; ceux-ci représentent la principale source d'énergie de l'organisme en dehors des périodes digestives.

- A l'opposé, la lipogénèse qui prédomine en phase digestive permet essentiellement le stockage des AG et des sucres non utilisés, ainsi que leur transformation en triglycérides (TG)

Au cours de la lipolyse, les TG de réserve sont hydrolysés en di glycérides sous l'influence d'une triglycéride lipase ; puis une di et une mono glycéride lipase les transformant en AG et en glycerol. La TG lipase est l'enzyme clé de ce catabolisme ; elle est activée par l'AMP cyclique dont la concentration tissulaire dépend des différents facteurs qui stimulent ou freinent la lipolyse.

- Le glycerol ainsi formé passe entièrement dans le courant circulatoire où on peut le doser.

- les AG intra cellulaires ont une double destinée :

- a) - une partie de ces acides gras passe dans le sang périphérique, où ils sont transportés par l'albumine ; cette fraction, connue sous le terme d'acide gras libre (AGL) dépend donc, entre autres, de la quantité d'albumine disponible.

Les AGL vont très rapidement disparaître du milieu sanguin une partie étant captée par le foie pour y être dégradée

ou réestérifiée ; les triglycérides endogènes ainsi formés seront ensuite libérés dans le sang sous forme d'un complexe lipoprotéique, les pré bêta lipoprotéines.

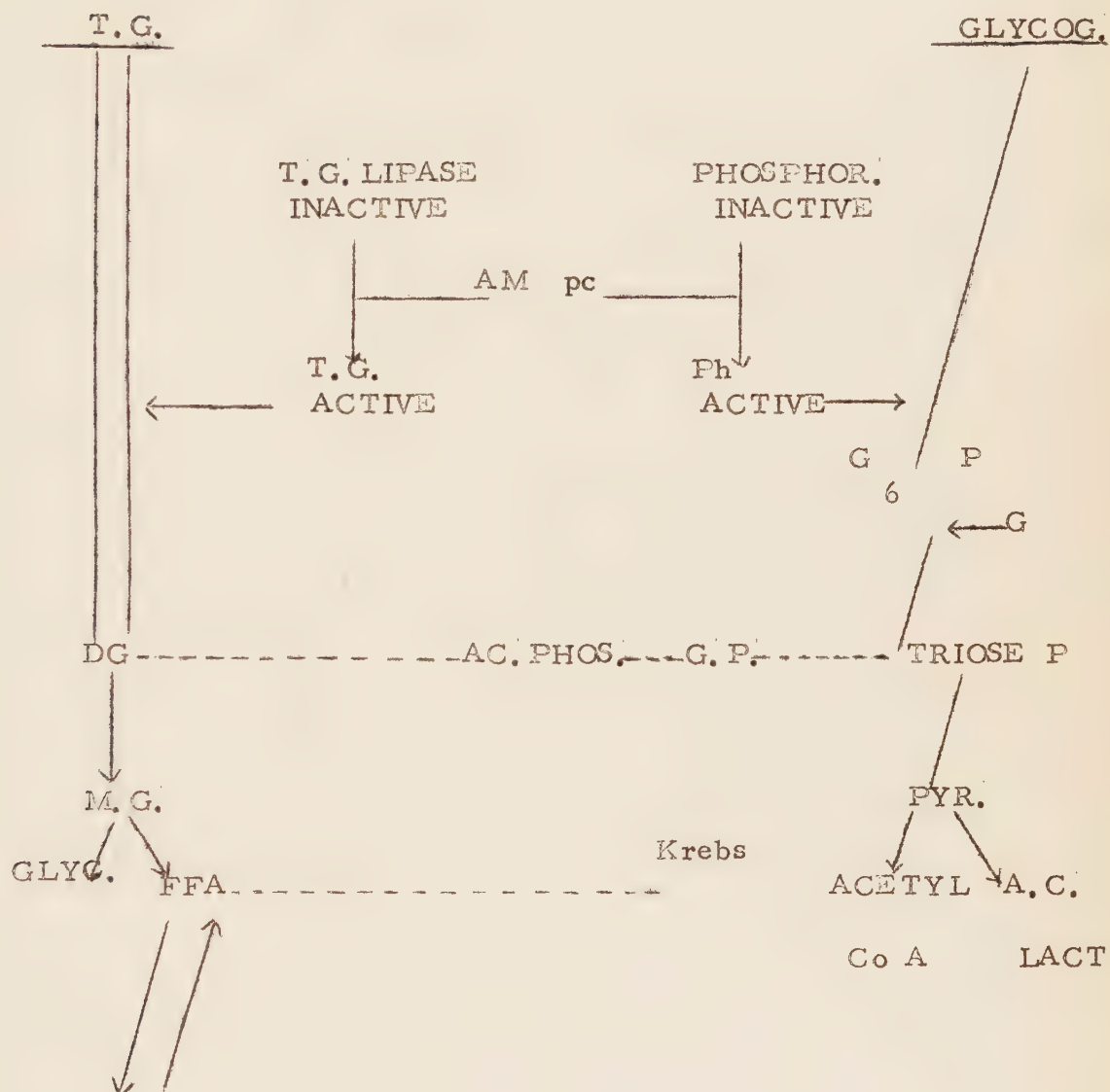
Le reste des acides gras libres est dégradé dans les tissus périphériques, et repris par le cycle de Krebs. Ils vont servir avant tout d'aliment énergétique ; mais, lorsque leur quantité dépasse les possibilités d'oxydation du cycle de Krebs, une partie peut être déviée vers la cétogénèse, avec augmentation des corps cétoniques dans le sang.

Ces différents paramètres : AGL, TG endogènes, glycérol, corps cétoniques, sont mesurables et permettent de suivre in vivo une augmentation de la lipolyse.

b) - Les acides gras intra cellulaires qui ne sont pas déversés dans le sang vont être repris pour la lipogénèse. Ils se mêlent aux acides gras provenant de la digestion et à ceux resynthétisés dans la cellule à partir de la dégradation du glucose. Ces acides gras vont être estérifiés par du glycérol phosphate en glycéride phosphate (ou acide phosphalidique), puis transformés en di puis en triglycérides. Il faut remarquer que le glycérol phosphate provient uniquement de la dégradation du glucose (ou du glycogène) cellulaire par la voie d'Embden Meyeroff, car le tissu adipeux est dépourvu de glycéro phosphokinase.

D'autre part, les diglycérides ainsi formés peuvent rejoindre la voie de la lipolyse. On peut remarquer, sur le schéma ci-joint, que l'AMP cyclique constitue un facteur d'activation commun à la triglycéride lipase, responsable de l'augmentation du stock des acides gras intra cellulaires, et à la phosphorylase, responsable, en partie de l'augmentation du stock de glycérol.

Le facteur lipomobilisateur interviendrait donc, comme la plupart des hormones connues, sur cet AMP cyclique, et uniquement sur lui.



ETUDE ANALYTIQUE DES DIFFERENTES
SUBSTANCES TROUVEES

I - DANS LES URINES

A - Extraction et Identification

1) - La F M S

Dès 1958, utilisant la méthode de WEIL et STETTEN, CHALMERS, KERWICK, PAUWAN et SMITH extraient, de l'urine humaine de sujets à jeun, une substance lipomobilisatrice qu'ils nomment Fat Mobilizing Substance, ou FMS.

Cette méthode fut mise au point en 1967.

Matériel

Le matériel employé est de l'urine de sujets à jeun ; il peut s'agir, soit d'urine humaine, provenant le plus souvent d'obèses, soit d'urine provenant de différentes espèces animales : chiens, moutons, chevaux, lapins, rats, souris.

Technique d'extraction

Le sujet doit être à jeun depuis au moins douze heures lorsque le recueil des urines commence, et ce jeûne est poursuivi pendant les 24 heures de recueil.

Le jeûne peut être plus prolongé, mais ne doit pas dépasser 6 à 7 jours, l'activité FMS des urines est maxima du 3ème au 7ème jour, puis la courbe d'activité décroît lentement pour être pratiquement nulle après le 14ème jour.

Les urines sont ensuite conservées au froid, à + 4°, dans un container dans lequel on a placé 10ml d'une solution à 10 % de thymol dans l'isopropanol. Elles peuvent se conserver environ une huitaine de jours, mais l'activité décroît cependant notablement, et le mieux est de les analyser rapidement.

Précipitation

Le Ph de l'urine est ajusté à 5,3 par addition de ClH N/1 ; puis, l'on prépare une solution saturée d'acide benzoïque dans le l'Ethanol. L'on ajoute 10 volumes de cette solution pour 100 volumes d'urine, très lentement, en faisant barbotter dans un courant d'azote. On obtient un épais précipité blanchâtre que l'on laisse reposer une nuit à + 4°, dans un container fermé. Puis le précipité est centrifugé, si possible à froid, et le surnageant jeté.

Le précipité est ensuite lavé à deux reprises avec 200 ml d'Ethanol à 95 % ajusté à pH 5, 3; ce qui le sépare de l'acide benzoïque. Ce lavage se fait dans un courant d'azote continu. Puis on ajoute au précipité lavé, 100 ml d'une solution aqueuse de carbonate de sodium à 0,5 %, en plaçant sur un agitateur pendant 15 minutes, pour bien dissoudre les aggrégats.

La solution de carbonate de sodium est ensuite centrifugée, et le surnageant, qui contient la FMS, gardé.

Une nouvelle précipitation est obtenue en ajustant la solution alcalise à pH 5,3 par du ClH N/1, et en ajoutant lentement 2 volumes d'alcool absolu, tout en faisant barbotter dans un courant d'azote.

La suspension est laissée à + 4° pendant au moins quatre heures, dans un container fermé, puis elle est centrifugée, toujours à froid, et le précipité seul gardé.

Ce précipité est dissout dans 50 ml d'une solution aqueuse de bicarbonate de sodium à 0,5 % en agitant fortement, puis on laisse reposer pendant 15 minutes.

Une deuxième centrifugation est faite, dont on garde le surnageant.

Ce surnageant est l'extrait brut, que l'on peut tester immédiatement, ou purifier. Cet extrait brut peut d'ailleurs être gardé plusieurs mois, après lyophilisation, à condition d'être placé sous azote.

Purification

Elle comporte trois stades.

- Tout d'abord, une ultra-filtration à + 4°C, à travers une membrane de dialyse "VISKING". L'ultra-filtration est ensuite passée sur une colonne de Sephadex G 50, et recueillie par fractions de 10 ml dans des tubes à essai. Les tubes qui présentent une absorption suffisante aux ultra-violets, sont ensuite passés sur une colonne de BIOGEL PLO, et les fractions les plus actives, lyophilisées, et gardées sous azote.

Test biologique

On teste de la même manière le produit brut et le produit purifié, le lyophilisat étant repris dans 10 ml d'eau distillée.

In vivo

0,5 ml de solution est injectée par voie intrapéritonéale à des souris. Une série témoin est injectée avec 0,5 ml de sérum physiologique, puis, après 6 heures, les souris sont sacrifiées, et l'on dose :

1)- les acides gras libres, par la méthode de Dole ; ils sont augmentés de façon notable dans la série injectée par la FMS.

Série témoin : les FFA ont une valeur qui varie de 200 à 600 meg par litre.

Série injectée par FMS : les FFA augmentent d'au moins 20 %, souvent de 100 à 200 %.

2)- Les corps cétoniques, par la méthode de PAWAN. Dans la série témoin, les taux varient de 0,4 à 1,8 mg/100 ml. Dans la série injectée avec FMS, les taux augmentent souvent de plus de 100 %.

In vitro

On étudie la libération d'acides gras libres à partir de graisses épидидymaire de rat, à laquelle on ajoute 5 volumes de FMS par ml de graisse, et ceci comparativement à une série témoin.

On peut étudier également la libération de corps cétoniques.

- Caractéristiques du produit obtenu

Les auteurs s'étendent peu sur la caractérisation du produit obtenu, leur extrait donne une bande unique en électrophorèse sur gel polyacrilamide.

A l'ultra centrifugation, existent deux pics, l'un principal, l'autre peu important.

Le poids moléculaire, déterminé par passage sur sephadex, est inférieur à 18 000. La composition biochimique n'est que partiellement connue, la FMS comprend une hexapeptide, formée des acides aminés suivants : His - Phe - Leu - Ser - Cys - Ac Asp - Ala.

Ce peptide est attaché à un résidu glucose, qui est une osamine.

2 - Les travaux de STEVENSON, BEATON et SLAZVKO

Ces auteurs, partant de l'urine de rat à jeun, isolent

par la même technique que les précédents, une substance qu'ils nomment FMS I, lipomobilisatrice, mais également anorexigène. Poursuivant leur extraction, ils séparent les deux activités lipomobilisatrice et anorexigène, en fractionnant la FMS I en FMA IA et FMS IB.

- Fractionnement

Après avoir précipité, selon la technique de KERWICK, CHALMERS et PAWAN, la FMS par de l'acide benzoïque, l'extrait brut est traité par de l'eau distillée. On obtient deux fractions :

. La fraction soluble est reprécipitée par de l'éthanol, à pH 5, 3, puis redissoute dans de l'eau. Cet extrait aqueux est appelé FMS IB. Son action est purement lipomobilisatrice.

. La fraction insoluble est traitée selon la technique de KERWICK, et l'on obtient un extrait alcalin : FMS IA, à action lipomobilisatrice et anorexigène.

- Purification

La fraction FMS IB peut ensuite être purifiée par ultrafiltration dans un tube dont la paroi est une membrane de dialyse "wisking", à 24°C, puis passée à travers une colonne de sephadex G 25.

La perte en matériel actif représente environ la moitié du produit non purifié.

- Test biologique

Les 3 produits : FMS I, FMS IA, et FMS IB sont ensuite testés, comme précédemment, in vivo, et surtout in vitro par incubation avec de la graisse épидидymaire de rat, placée dans un milieu de Krebs Ringer, auquel on ajoute un tampon bicarbonate et 4 % d'albumine bovine.

Caractérisation du matériel obtenu

La quantité de FMS I secrétée en 24 heures par un rat adulte représente 5 à 9 mg. L'identification du matériel obtenu a été faite par les techniques habituelles, en particulier hydrolyse acide, chromatographie, technique , électrophorèse.

Ce produit comporte une chaîne polypeptidique, une hexosamine, du cholestérol, et un reste non encore identifié. La chaîne polypeptidique est formée :

- Pour la FMS I et FMS IA, de 9 à 16 acides aminés, qui sont : Ac Asp - Thré - Ser - Ac Glu - Pro - Gly - Ala - Val - Cys Isoleu - Thyr - Arg - Phen - Lys - Hist et peut être du Tryptophane.

- Pour la FMS IB, il existe 9 à 15 acides aminés :
il manque une valine.

L'ultrafiltration purifie le matériel en supprimant un support protéique. Mais, le fractionnement de cet ultrafiltration montre qu'il est composé de trois parties, ayant toutes les trois une activité lipolytique.

- La fraction I, qui comporte des hydrates de carbone en petite quantité,

- La fraction II, qui comporte hydrates de carbone et protéines,

- La fraction III, qui comporte des protéines.

STEVENSON et Coll. comparant leur produit à celui de CHALMERS le trouve semblable.

3) - D'autres auteurs se sont également occupés de cette substance lipomobilisatrice extraite des urines.

BRAUN, également d'après la technique de CHALMERS et Coll., extrait des urines de sujet humain à jeun, une substance lipomobilisatrice.

GOTH retrouve la même substance, utilisant toujours la même technique, de même que SEIFTER.

En conclusion, il semble donc que, par la technique de CHALMERS & Coll., l'on puisse retrouver, dans les urines de sujets ou d'animaux à jeun une substance lipomobilisatrice.

Nous-mêmes n'avons pu encore mettre en évidence de produit.

Etudions, plus précisément les effets de cette substance.

L - Etude des effets biologiques

Effets lipomobilisateurs

1)- La FMS de CHALMERS, KERWICK et PAWAN.

L'action lipomobilisatrice est pratiquement la seule étudiée.

- In vivo

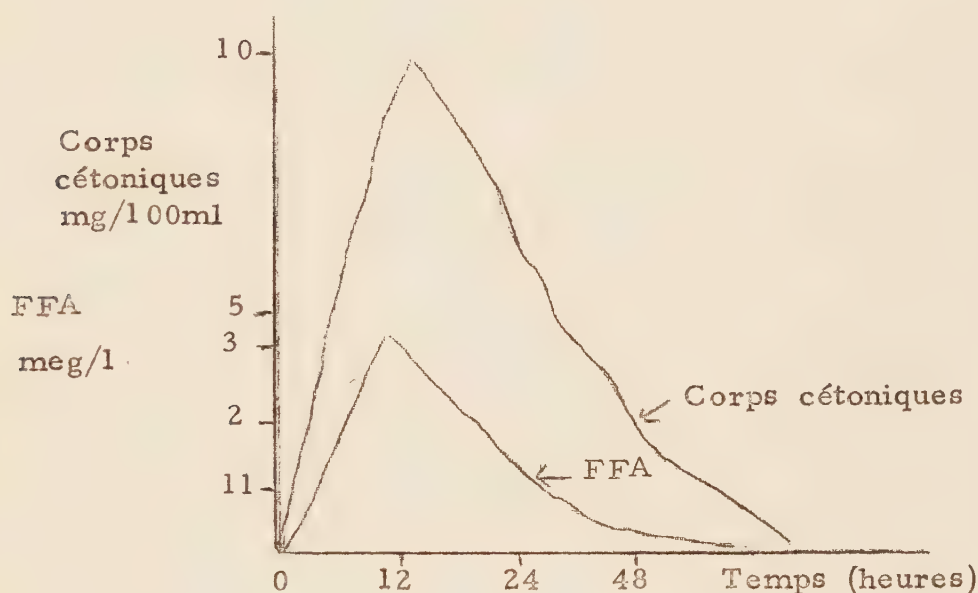
1) - Nous avons déjà vu l'action lipomobilisatrice de la FMS utilisée comme test de son activité.

Rappelons que 1/2 ml de substance injectée, ce qui correspond à 1/20 de la FMS extraite des urines de 24 heures d'une souris, contient environ 1/4 de mg de FMS, l'excrétion par 24 heures étant de 5 mg.

Cette dose entraîne une élévation des FFA circulant chez la souris, de 20 à 200 % et une élévation encore plus importante des corps cétoniques.

2) - L'injection d'une seule grosse dose de 5 mg de FMS chez le rat, entraîne une élévation des FFA, dont le taux de base est multiplié par 6, et une élévation des corps cétoniques, dont le taux de base est multiplié par 10.

Le maxima est atteint entre la 6ème et la 12ème heure. Le chiffre des FFA et des corps cétoniques n'est pas revenu à la normale après 48 heures.



3)- Injection journalière, à des rats, de 250 m/g de FMS, pendant 9 semaines.

La série de rats infectée avec de la FMS est comparée à une série témoin, injectée avec du sérum physiologique.

Après neuf semaines, on constate, dans la série testée, une perte de poids importante, le poids à la fin de l'expérience correspondant aux trois quarts du poids initial, cette perte de

poids se faisant aux dépens de la carcasse grasseuse.

Rappelons que ces animaux ont libre accès à la nourriture. Le poids des animaux témoins n'a pas varié.

La mesure de la perte d'énergie dans les urines a montré, dans la série test, une augmentation importante de cette perte, qui passe de 2 % dans la série témoin, à 18 %. Le pourcentage est calculé par rapport à l'absorption énergétique journalière.

La perte d'énergie dans les selles est également plus importante et passe de 8 % à 17 %.

4) - Une expérience fort intéressante fut pratiquée chez l'homme : elle consista en l'injection journalière, pendant un temps variable, en moyenne de 70 jours, de 50 mg de FMS.

Les sujets choisis furent six patients obèses, dont le régime était de 1500 calories par jour, comprenant 120 g d'hydrates de carbone, conditions dans lesquelles la FMS n'était pas retrouvée dans les urines.

Une série témoin fut injectée avec une solution saline.

Après ce laps de temps, il fut constaté que :

- le taux moyen des FFA était passé dans la série test, de 900 meq par litre à 1400 meq/litre ;
- le taux des corps cétoniques, de 2,3 meq/litre à 4,5 meq/litre ;
- la perte de poids de la série testée était le double de celle de la série témoin.

- In vitro

L'action lipomobilisatrice de la FMS fut peu étudiée in vitro. Rappelons le test biologique d'activité, déjà décrit.

2)- BEATON SZLAVKO & STEVENSON ont fait des études plus poussées sur l'activité lipomobilisatrice in vitro de leur produit.

Comparant les effets de la FMS I, FMS IA, et FMS IB sur de la graisse épидидymaire de rat, ils trouvent que :

- 100 μ g de FMS I entraînent une production de FFA de 1,45 moles par 100 μ g de tissu adipeux
- 100 μ g de FMS IA, entraînent une production de FFA de 1,25 μ moles
- 100 μ g de FMS IB, une production de 2,07 μ moles.

Dans une autre expérience, ils comparent les effets de la FMS IB et de son produit purifié :

- 100 μ g de FMS IB ajoutés à 250 mg de graisse épидидymaire, entraînent une production de 1,37 μ moles de FFA.
- 100 μ g d'ultrafiltrat, produisent 4,10 μ moles de FFA.

On peut donc conclure que l'activité de la FMS IB est un peu plus importante que celle de la FMS IA et de la FMS I, et surtout que le produit purifié, ultrafiltrat, est deux à trois fois plus actif que le produit non purifié.

Il faut préciser que ces résultats sont très variables avec le pH et le milieu : la libération est la plus importante quand le pH voisine 8, et quand le milieu contient un tampon phosphate bicarbonaté.

- EFFET SUR LE METABOLISME DES HYDRATES

DE CARBONE -

1) - CHALMERS, KERWICK et PAWAU

observent une hypoglycémie transitoire et très discrète la quatrième heure qui suit l'injection "in vivo" de FMS.

Cette action sur le métabolisme hydrocarboné leur paraît secondaire à l'action lipomobilisatrice. L'augmentation des acides gras intra cellulaire entraîne une augmentation de l'entrée du glucose dans la cellule. Ceci aurait pour conséquence une accélération de la synthèse du glycérol, avec augmentation du catabolisme glucidique par la voie d'EMBDEN MEYEROFF et par le cycle de Krebs, et inhibition de la voie des pentoses.

2) - STEVENSON, BEATON et SZLAVKO

retrouvent également une hypoglycémie transitoire et discrète, après injection in vivo de FMSI, FMSIA, et FMSIB. Mais cette activité n'est pas retrouvée après injection de leur produit purifié de FMS IB.

C - Production de FMS

Pour tous ces auteurs, la FMS est d'origine hypophysaire : on ne retrouve pas d'activité FMS dans l'urine de sujets hypophysectomisés, ou dont l'hypophyse est détruite.

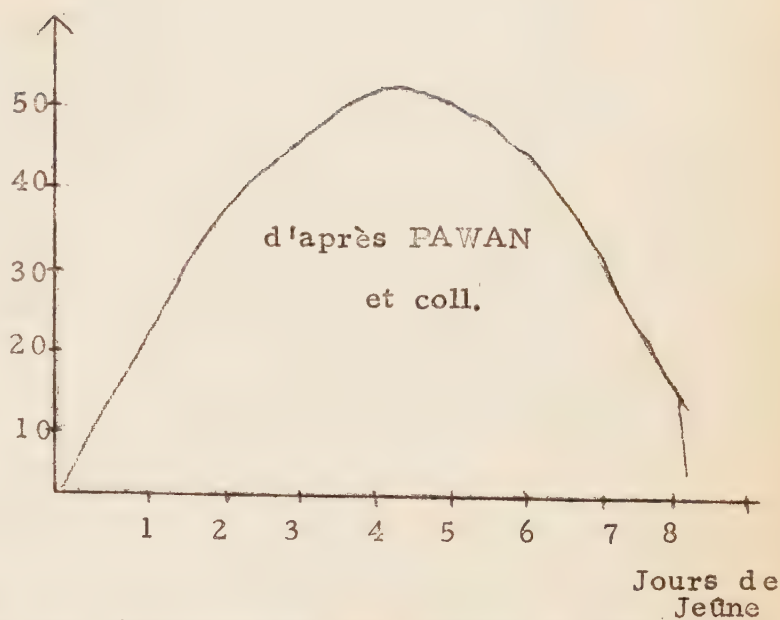
1) - Pour CHALMERS et collaborateurs, une activité FMS est retrouvée dans tous les cas où existe une augmentation du métabolisme lipidique avec mobilisation des triglycérides de réserve.

- Cette activité a tout d'abord été étudiée chez des sujets obèses, mis au jeûne.

. Elle existe dès la 12ème heure, augmente jusqu'au 3ème jour de jeûne.

. se maintient élevée jusqu'au 7ème - 8ème jour, puis diminue.

Pourcentage
d'augmentation
dans le plasma
des FFA de souris
avec extrait uri-
naire correspondant
environ à 1/20^e du
produit journalier



. Elle dépend du type de régime auquel est soumis l'obèse. Pour un régime de 1000 calories, l'activité retrouvée est :

- positive si le régime est composé de 90% de graisses
- positive si le régime est composé de 90 % de protides
- négative s'il est composé de 90 % d'hydrates de carbones.

Mais, l'activité a été également retrouvée dans d'autres conditions :

- . Chez les sujets normaux soumis au jeûne, ou ayant un régime normal mais une activité physique augmentée ;
- . Chez les sujets présentant une hyperlipémie alcoolique, en régime libre ;
- . Enfin, chez les sujets venant de subir une intervention chirurgicale.

2) STEVENSON et Coll. n'étudient la production de FMS que chez l'homme ou le rat à jeun.

3)- GOTH et Coll. la recherche dans les cas suivants :

- patients présentant :

- . un syndrome de Sheehan et mis
sous régime restrictif en calories -pas d'activité
- . une acromégalie, avec régime
normal -activité FMS
- . un diabète sans cétonurie -pas d'activité
- . une acromégalie avec diabète
sous régime normal -pas d'activité

Ils trouvent, de plus, que si l'on administre aux souris, en plus de l'extrait urinaire actif, de l'Insuline, l'activité FMS est entièrement inhibée.

4) - BRAUNN et Coll.

trouvent également une activité FMS chez les sujets atteints de néoplasmes, et cachectiques.

II - FACTEURS ISOLÉS DANS L'HYPOPHYSE

Les études sont à la fois plus poussées mais plus diverses. Deux doivent en particulier retenir l'attention ; celle de L I et Coll. sur la LPH, celle de TRYGSTADT sur la LMF.

A - Extraction et identification

1)- ASTWOOD, FRIESEN & BARRETT furent parmi les premiers à s'intéresser récemment à ce sujet. Plusieurs publications, échelonnées entre 1959 et 1964 précisent leur travail.

Ces auteurs isolent directement au niveau de l'hypophyse deux peptides, qu'ils nomment peptide I et peptide II, ayant tous deux une action lipomobilisatrice.

- le matériel utilisé

Ces peptides sont extraits d'hypophyse de porc.

- Technique d'extraction

L'hypophyse est d'abord traitée par l'acide acétique d'après la méthode de FERGUSON & WALLAGE ; on obtient ainsi un extrait acétique contenant les différentes hormones hypophysaires, que l'on peut précipiter, et la substance lipomobilisatrice dans la fraction soluble restante. Cet extrait acétique est soumis à une électrophorèse à haut voltage en gel d'amidon, à des pH variables. On obtient ainsi plusieurs fragments, de mobilité électrophoretique différente.

Pour un pH donné, chaque pic a une mobilité maxima caractéristique.

En comparant la mobilité électrophorétique de ces fragments avec les peptides hypophysaires connus, on retrouve ainsi les différentes hormones hypophysaires, plus une fraction IX, dont la mobilité électrophorétique est particulière, et qui

possède une activité lipomobilisatrice. Cette fraction correspondant aux peptides I et II. Les autres fractions sont l' α intermedin (I), ACTH (V), ACTH A₂ (VI), STH (VII), β intermedin (VIII).

- Purification

La purification de cette fraction IX se fait par chromatographie, utilisant une résine échangeuse d'ion, et des colonnes de Sephadex G50.

- Caractérisation du matériel obtenu

La fraction obtenue comporte les deux peptides I et II, dont le poids moléculaire, déterminé par filtration, est respectivement de 5000 pour le peptide I, et compris entre 10 et 20 000 pour le peptide II.

- A l'électrophèse, le peptide I donne un pic homogène et étroit et le peptide II un pic plus large, et moins homogène.

- L'étude à l'immuno-électrophorèse et avec les antisérums correspondants, a montré qu'il n'existait pas de cross-réaction entre les peptides I et II d'une part, et d'autre part l'alpha et la beta MSH, l'ACTH et la STH.

- Ces auteurs ont également isolé leur peptide I et II d'une hypophyse humaine. Les caractéristiques de ces peptides d'origine humaine sont identiques à celles des peptides d'origine animale. Il n'y a pas de cross-réaction entre les peptides de différentes origines. La comparaison a été faite entre ces peptides I et II et une autre substance lipolytique, isolée par RUDMAN du lobe antérieur de l'hypophyse, et nommée par lui "fraction H".

La caractérisation de cette fraction H ainsi que l'étude de ses effets biologiques a été faite par l'équipe d'ASTWOOD et Coll., avec les mêmes techniques que pour les peptides I et II.

Il en ressort que cette fraction H est identique, tant par ses caractères physicochimiques que son action biologique au peptide II.

2)- LI, CHRETIEN, LOHMAR et Coll., en 1964, isolent, à leur tour, deux peptides hypophysaires à action lipomobilisatrice, la β et la γ lipotropic hormone (LPH).

- Le matériel employé

Le matériel employé est de l'hypophyse animale, boeuf, mouton, brebis ; le peptide obtenu est le même quelque soit l'animal employé.

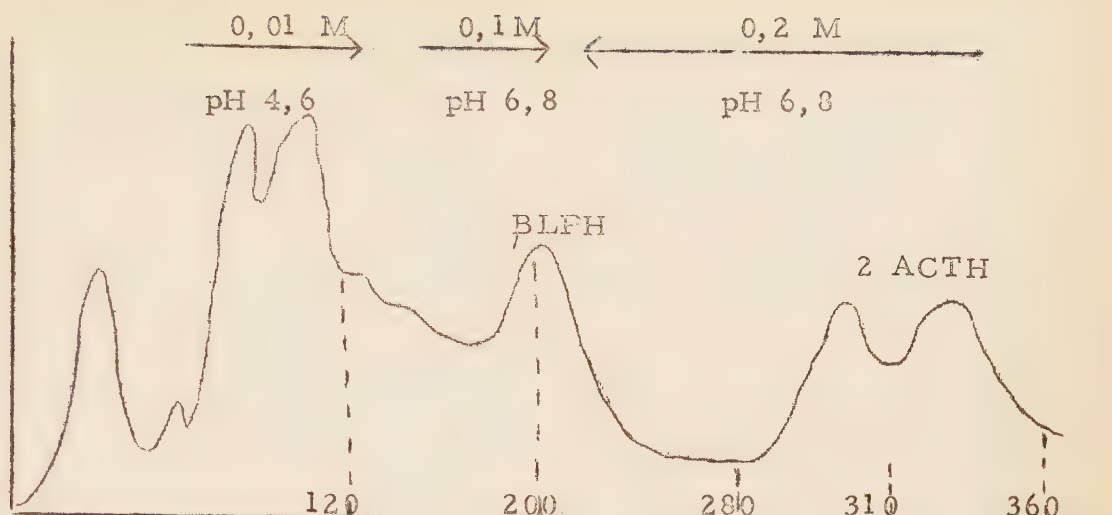
- La technique d'extraction

Elle comporte quatre stades, les trois premiers sont communs, à la β et γ LPH. Seul le dernier diffère.

- . A partir de glande hypophysaire intacte
- . Extraction par l'acide acétique à 0°
- . Précipitation par du Cl Na à 0°
- . Dialyse à pH 8, ce qui permet d'obtenir une fraction soluble, nommée fraction D'.
- . Chromatographie de cette fraction soluble sur CM cellulose, en gradient de pH et de concentration de solution d'acétate d'ammonium, ce qui permet d'obtenir soit la beta soit la gamme LPH.

1)- Obtention de la beta LPH

La colonne est initialement équilibrée avec de l'acétate d'ammonium 0, 01 M a pH 4,6. Après la sortie du matériel non absorbé, un gradient d'élution est pratiqué en introduisant de l'acétate d'ammonium à 0,01 M à pH 6,8. Au tube numéro 200 on le remplace par de l'ammonium 0,2 M à pH 6,8. On obtient ainsi un pic correspondant à la beta LPH.



2)- Obtention de gamma LPH

La fraction D' est passée à travers la colonne de CM cellulose équilibrée, comme précédemment, avec un tampon d'acétate d'ammonium à 0,01 M pH 4,6. Une première élution est alors faite, avec de l'acétate d'ammonium à 0,05 M pH 6,7. On obtient ainsi deux pics C et D, et le reste du matériel que l'on sait contenir la beta LPH et l'ACTH, est rapidement élué avec de l'acétate d'ammonium à 0,2 M.

Le pic C contient la gamma LPH.

- Purification

1°- La Beta LPH

Le pic de beta LPH obtenu subit une nouvelle chromatographie sur C M cellulose, dans les mêmes conditions. Le dernier stade de purification est une chromatographie sur C M cellulose, mais, cette fois-ci à pH constant (4,6), en augmentant seule la concentration d'acétate d'ammonium.

2°- La gamma LPH

Le pic de gamma LPH subit lui aussi une deuxième

chromatographie sur C M cellulose identique à la précédente. Puis, une série de deux chromatographies est pratiquée, cette fois-ci sur DEAE cellulose. Le dernier stade est une nouvelle chromatographie du matériel obtenu sur CM cellulose.

- On obtient ainsi deux produits purifiés dont la quantité par rapport au poids total de glande est très faible. A partir de 8 kilogs de lobe antérieur d'hypophyse de boeuf, on obtient un pic de LPH de 193 mg, qui donne 90 mg de produit purifié. A partir de 1 kg d'hypophyse, on obtient 0,02 g de gamma LPH purifiée.

- Caractérisation des produits obtenus

Les produits obtenus ont été analysés par différentes méthodes :

- électrophorèse sur gel, polyacrilamide
- sédimentation par ultracentrifugation et calcul du poids moléculaire en équilibre de sédimentation
- analyse des acides aminés après hydrolyse acide
- analyse du résidu N terminal par la méthode d'EDMANN
- clivage par le bromure de cyanure et étude des différents fragments
- digestion tryptique.

On obtient les résultats suivants :

- . La beta et la gamma LPH migrent chacune sur une seule bande à l'électrophorèse ;
- . leur poids moléculaire est de 9800 pour la beta LPH et 5809 pour la gamma LPH ;

. Le coefficient de sédimentation de la JLPH est de 0,745.

. la beta LPH contient 90 acides aminés, et la gamma LPH, en contient 58. La séquence de ces acides aminés est entièrement déterminée. La séquence des 58 acides aminés de la beta LPH. Mais, on constate de plus que la séquence des 18 acides aminés numéro 41 à 58 correspond à la structure complète de la beta MSH, et que, de plus, une séquence de sept acides aminés, numéros 47 à 53, est commune avec l'ACTH, la beta MSH, la beta et la gamma LPH.

Les auteurs remarquent que cette séquence de 7 acides aminés se retrouve dans tous les peptides ayant à la fois une activité mélanotrope et lipolytique. Cette séquence est la suivante :

Met - Glu - His - Phé - Arg - Try - Gly.

1 41 42 43 44 45
 55
 PRO-SER-GLY-TRY-ARG-PHE-HIS-GLU-MET-LYS-TYR-PRO-GLY-ASP-GLU...
 LPH_β

PRO-LYS-ASP.....GLU NH2

56 57 58 90

X LPH GLU...ASP-SER-GLY-PRO-TYR-LYS-MET-GLU-HIS-PHE-ARG-TRY-GLY-SER-PRO-

I 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55

. PRO-LYS-ASP NH₂

• PRO- LYS- ASP NH₂

56 57 58

β ISH
 1 ASP-SER-GLY-PRO-TYS-LYS-MET-GLU-HIS-PHE-ARG-TRY-GLY-SER-PRO-
 2
 3
 4
 5
 6
 7
 8
 9
 10
 11
 12
 13
 14
 15
 .PRO-LYS-ASP-NH₂

• PRO- LYS- ASP NH₂

16 17 18

Se rapportant aux autres peptides hypophysaires lipomobilisateurs décrits, ils notent que la gamma LPH paraît identique au peptide I d'ASTWOOD, tant par son poids moléculaire que par son activité. Mais, une comparaison plus approfondie ne peut être faite, tant que la structure complète du peptide I ne sera pas déterminée.

3)- TRYGSTADT, en 1967, travaillant sur des préparations de STH et d'ACTH humaine, rapporte l'effet lipomobilisateur de ces préparations. D'après cet auteur, cet effet lipomobilisateur était dû à une contamination par une substance non encore identifiée

Entre 1967 et 1969, ce facteur nommé LMF (lipomobilizing factor), fut isolé, et l'étude de ces caractères physicochimiques, comme de son activité biologique, fut approfondie.

- Le matériel d'extraction

Il s'agit toujours d'hypophyse humaine prélevée après autopsie et gardée à moins 18°.

Aucune recherche ne fut faite chez l'animal.

- Technique d'extraction

La technique est basée sur les méthodes déjà utilisées par d'autres auteurs pour l'isolement de facteur lipolytique au niveau de l'hypophyse. Le principe en est l'extraction hypophysaire à pH légèrement alcalin, suivi de précipitation du matériel lipolytique par de l'acétone ou de l'éthanol.

L'extraction comporte les stades suivants :

- homogénéisation de glandes hypophysaires gardées à moins de 18° et extraction dans un tampon de phosphate 0,1M pH8,5.

- centrifugation à 0°, ce qui permet d'obtenir un résidu et un surnageant, que l'on réajuste à pH 4,5.

- une nouvelle centrifugation sépare un deuxième résidu d'où sera extraite la STH, et un deuxième surnageant, auquel on ajoute de l'acétone jusqu'à 55 % de saturation.

- une troisième centrifugation sépare un résidu numéro trois, gardé pour la préparation des gonadotrophines, et un surnageant numéro trois, auquel on ajoute de l'acétone jusqu'à 90 % de saturation ;

- une quatrième centrifugation sépare un surnageant , qui est jeté et un résidu numéro quatre, qui est gardé. Ce résidu est dissous dans de l'eau, et dialysé contre de l'eau, puis lyophilisé.

Le produit lyophilisé est appelé cLMF (crude LMF)
Pour un gramme d'hypophyse, on obtient environ 5 mg de cLMF.

- Purification

La purification comporte deux temps.

Tout d'abord filtration de la cLMF sur une colonne de Sephadex G 100, ce qui permet d'obtenir la s LMF (Sephadox LMF).

Puis, chromatographie sur DEAE cellulose, qui aboutit à la d LMF, qui donne 2 bandes à l'électrophorèse en gel polyacrilamide.

Cette d LMF est constituée de deux pics protéiques ; le volume d'élution correspondant à chaque pic est dialysé, puis lyophilisé. On obtient ainsi deux fractions, appelées d LMF, et d LMF₂.

Pour un gramme d'hypophyse, on obtient :

0,2 mg de LMF₁ , et,

0,07 mg de d LMF₂.

Les deux points importants dans cette méthode, et sur lesquels insiste l'auteur sont : d'une part le matériel de départ, qui est de l'hypophyse conservée à moins 18°, et non pas séchée par l'acétone, pour TEYGSTADT, l'emploi de l'acétone, à ce stade, fait disparaître l'activité lipolytique.

D'autre part, la nécessité de travailler entre 0° et + 4°, car l'incubation à 37°, surtout au début de l'extraction, fait disparaître l'effet lipolytique.

- Caractérisation du matériel obtenu

- L'électrophorèse sur gel polyacrilamide montre qu'il existe :
 - deux bandes pour la d LMF
 - une seule bande pour la d LMF₁
 - deux bandes pour la d LMF₂, qui sont identiques à celles de la d LMF.
- l'absorption en ultra-violet est identique pour la d LMF, d LMF₁ et d LMF₂
- le poids moléculaire, déterminé par passage sur Sephadex G 50 est de 5400 pour les trois extraits. Mais, par ultra-centrifugation, on trouve pour la d LMF₁, un poids moléculaire de 2100.
- enfin, il existe une diminution très nette de l'activité des trois produits après une heure à 37°.

Ces trois substances lipomobilisatrices : peptide I et II beta et gamma LPH, et LMF, sont les plus étudiées.

4)- D'autres auteurs, cependant, se sont penchés sur le problème :

- LEITES SM et DAVTYAN, en 1964, à Moscou, décrivent également une adiposine, d'origine hypophysaire, et dont l'action est uniquement lipomobilisatrice ;

- LIPOVETSKI B.M., en 1965 à Léninegrad, décrit également un facteur spécifique lipomobilisateur ;
- de même VINCENT et DE VRIES, isolent un produit de l'hypophyse de porc ;
- BRAUN et FABRY, à Prague, comparent l'effet lipomobilisateur d'homogénat hypophysaire de rats normaux, avec celui de rat présentant du diabète alloxanique, et trouvent que l'effet est moindre dans le deuxième cas.

La comparaison de ces différentes substances, retrouvées au niveau de l'hypophyse, est plus difficile que celle des substances recherchées dans les urines, et ceci pour plusieurs raisons :

- d'une part, le matériel de départ varie.
Différentes espèces animales, et l'espèce humaine, sont utilisées, mais aucune étude comparative valable n'est menée sur les substances retrouvées chez l'homme et chez l'animal.
- d'autre part, si les techniques sont comparables, elles ne sont pas identiques, et la caractérisation des produits obtenus est très variable.

Cependant, quelques comparaisons ont pu être faites, rappelons-le, entre la substance H. de RUDMAN et le peptide II d'ASTWOOD, la gamma LPH et le peptide I.

B - EFFETS BIOLOGIQUES

- EFFET LIPOMOBILISATEUR

1) - ASTWOOD, FRIESEN et BARRETT étudient l'effet lipomobilisateur de leurs peptides I et II "in vitro" et "in vivo".

- In vitro

Les expérimentations sont faites sur du tissu adipeux mésentrique de rat, ou parfois de lapin, incubé pendant trois heures

dans un milieu de Krebs Ringer avec tampon phosphate, contenant 5 % d'albumine. On mesure la libération d'acides gras libres par la méthode de DOLE, et les résultats sont donnés en meq par gramme de tissu et par heure.

Trois séries d'expérimentation furent menées.

1)- La première utilise une préparation de peptide I et II. En ajoutant 0,02 μ g de cette préparation pour 1 ml de graisse, on obtient après trois heures, un taux de FFA de 4 μ g/ heure. Si l'on ajoute 0,5 μ g de préparation par ml, la libération des μ g FFA est maxima, et atteint 13 μ g /heure.

2) - La deuxième utilise le peptide I purifié. On obtient une réponse nette pour 0,01 μ g de produit par ml de graisse, et maximum pour 0,05 μ g

3)- La troisième utilise le peptide II purifié, 1 μ g de peptide est nécessaire pour obtenir une réponse nette, et 5 μ g pour une réponse maxima. L'activité lipolytique du peptide est donc 100 fois supérieure à celle du peptide II.

Ces auteurs, étudiant l'effet biologique de la substance H. DE RUDMAN, trouvent que son activité est identique à celle du peptide II.

- In vivo

Les expérimentations furent menées sur différentes espèces animales.

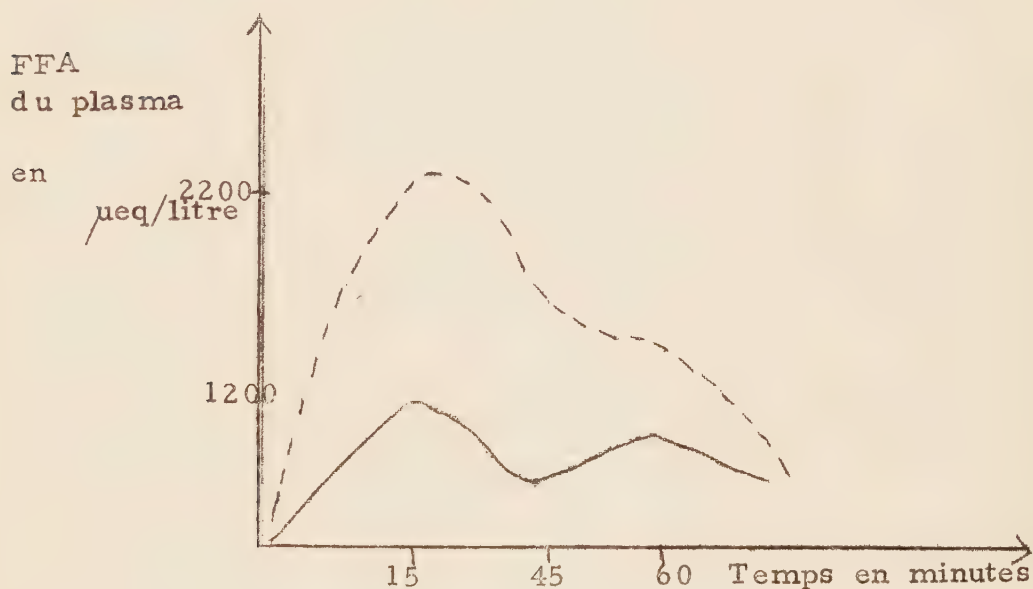
. Sur des lapins mâles, en étudiant l'effet de l'injection intra-veineuse et sous-cutanée du produit purifié, sur les acides gras plasmatiques, dosés par la méthode de DOLE, et sur les lipides totaux, dosés par la méthode de STERN et SHAPIRO.

Sur l'animal ayant libre accès à la nourriture, l'injection de 50 μ g en intra-veineux, d'une préparation de peptide I + II donne les résultats suivants :

taux de FFA au départ	:	500	μ eq/litre
après 15 mn	:	1960	μ eq/litre
après 30 mn	:	2300	μ eq/litre
après 45 mn	:	2900	μ eq/litre.

L'injection de 100 et 200 μ g en intra veineux donne des résultats identiques, le pic étant à 2500/ μ eq/litre après 10 minutes.

Si l'expérimentation est menée sur l'animal à jeûn, la montée des acides gras est plus précoce, plus importante, et dure plus longtemps.



L'effet biologique de ces peptides I et II, a été étudié chez l'homme.

Le petit nombre des expérimentations ne permet pas de conclure, néanmoins, il semble que l'effet lipolytique de peptides d'origine porcine soit nul chez l'homme.

Evouquant la possibilité de cas d'espèce, la même expérimentation fut conduite avec des peptides provenant d'hypophyse

humaine, préparés par la même méthode que précédemment, mais dont la purification fut poussée moins loin, et dont l'activité était moindre.

L'étude in vivo et in vitro ne permet pas de mettre en évidence une action lipolytique.

2) - LI et Collaborateurs étudièrent l'activité de leur beta et gamma LPH sur le lapin, le rat.

- In vitro

Le dosage des FFA est pratiqué suivant la méthode de WHITE et ENGEL. La libération des FFA dans le milieu est variable suivant l'origine du tissu adipeux utilisé.

- Chez le lapin, la dose minimale effective, en μg de substance active, est de 0,01 à 0,1 pour la β et la γ

- Chez le rat, la dose minimale effective est bien supérieure : elle est de 1 à 5 μg pour la β LPH. Quant à la γ elle n'a aucune activité.

3)- TRYGSTADT poussa plus loin l'étude des effets lipolytiques de sa LMF d'origine humaine.

- In vitro

L'activité de la LMF fut étudiée :

1° - Chez le lapin - Le matériel utilisé est du tissu adipeux périrénal, incubé avec de la sérum albumine bovin, auquel on ajoute la substance purifiée.

Après trois heures d'incubation, on mesure la libération des FFA dans le milieu, les résultats étant donnés en μ mol de FFA pour 100 mg de graisse.

- Pour la s LMF, qui est la LMF non encore totalement purifiée, on a le résultat suivant :

- . 0,0001 μg de s LMF (par ml de graisse) est la dose nécessaire pour avoir une libération nette de FFA
- . 0,1 μg de s LMF entraînent la libération de 2,45 mol de FFA par 100 mg
- . 10 μg de s LMF, entraînent la libération de 9,47 mol de FFA.

L'intensité de la réponse est donc proportionnelle à la quantité de LMF ajoutée.

- Pour la d LMF, qui est la substance la plus purifiée, la dose minimale active est de 0,000.001 μg /ml pour obtenir une libération de FFA qui est de 0,37 μmol /100 mg de graisse.

La d LMF paraît ici mille fois plus active que la s LMF.

2° - Chez la souris ou le rat albino

L'effet est bien moindre.

- . 100 μg des LMF entraîne une libération de FFA de 2,89 μmol /100 mg.
- . par contre, la d LMF n'a aucune action lipolytique.

3° - Chez la souris jeune obèse

existe, cependant, un effet lipolytique de la d LMF, mais pour des doses de 0,1 à 0,01 μg /ml de d LMF.

4° - Chez l'homme

La graisse sous cutanée abdominale est prélevée et incubée avec de l'albumine humaine.

- . La s LMF

0,01 μg entraînent une libération de FFA de 1,45 μmol /100mg.

L'activité est donc comparable à celle retrouvée chez le lapin.

- . la d LMF

Il faut 0,001 $\mu\text{g/ml}$ de substance pour avoir une activité.

- In vivo

Les études sont faites également chez différentes espèces. La substance à étudier est injectée par voie parentérale et l'on mesure toutes les heures, l'augmentation du taux de FFA du sérum.

1° - Chez le lapin

- l'injection de 0,1 mg de s LMF a les effets suivants :

- . Au départ, le taux des FFA est de 0,22 $\mu\text{eq/litre}$
- . Après deux heures, il est de 5,29 $\mu\text{eq/litre}$.

L'effet est maximum après 2 heures ; il persiste encore après 7 heures.

- la d LMF a une action identique pour des doses moitié moindre.

- la d LMF₁ a une activité plus nette encore. Une heure après l'injection, on obtient les taux de FFA suivants :

Pour 0,010 mg de d LMF ₁	0,74 meq/litre
0,025	1,96 "
0,050	3,46 "
0,100	4,72 "

L'augmentation des FFA paraît proportionnelle au logarithme de la dose de d LMF₁.

2° - Chez la souris

l'effet est là encore bien moindre.

5 mg de s LMF font passer les FFA de 0,41 à 2,77 meq/litre après deux heures.

3° - Chez l'homme

5 mg de s LMF entraîne une augmentation moyenne des FFA de 0,85 meq/litre, après 2 heures.

L'étude de ces effets lipolytiques de la LMF entraîne plusieurs remarques :

- L'effet adipokinétique de la s LMF sur le lapin in vivo est diminué par purification, ce qui peut être dû soit à une dénaturation, soit à la séparation d'avec une contamination qui potentialise l'effet adipokinétique.

Mais, l'effet in vitro n'est pas diminué, ce que l'on peut expliquer par la séparation du matériel lipolytique d'avec un enzyme proteolytique.

- L'effet adipotropique discret observé chez le rat avec la s LMF est probablement dû à des impuretés d'ACTH, et il n'est pas retrouvé avec la d LMF₁.

- L'étude sur du tissu adipeux humain montre que la concentration de LMF nécessaire pour obtenir une élévation nette des FFA est dans les limites physiologiques.

C'est le seul peptide hypophysaire lipolytique isolé, actif chez l'homme.

- EFFET SUR LE METABOLISME DES
HYDRATES DE CARBONE -

TRYGSTADT fut l'un des seuls à étudier l'effet de sa substance LMF sur le métabolisme des hydrates de carbone.

L'injection , chez le lapin, de 0,1 mg de s LMF, détermine :

- une première montée transitoire et précoce de la glycémie, qui passe de 1 g/litre à 1,20 g/litre à la 2ème heure.

- une diminution de cette glycémie qui peut atteindre des valeurs inférieures à la normale à la quatrième heure.

- une deuxième remontée, plus lente, qui atteint 1,40g/litres à la 48ème heure, pour redescendre à la normale après 4 à 5 jours.

L'injection de d LMF₁ produit une courbe similaire ; la montée maxima du glucose est, à la 96ème heure, de 1,72 g/litre pour 0,500 mg de d LMF₁.

L'hyperglycémie est proportionnelle à la dose injectée. L'explication donnée est la suivante : le premier pic serait dû à l'augmentation des FFA sanguins, d'après l'hypothèse de RANDLE.

La baisse de la glycémie à la quatrième heure, qui peut parfois aller jusqu'à des valeurs inférieures à la normale, serait due à une stimulation de la sécrétion ou de la production de l'insuline ou bien à une potentialisation de l'insuline par le peptide ou encore à une action insulinelike particulière.

Il faut également rapprocher de ceci les peptides hypoglycémiques isolés par HUGGINS et OTTAWAY à partir de STH non purifiée.

Le deuxième pic d'hyperglycémie, qui persiste 9 jours, est plus surprenant, et peut être dû à une contamination, ou à la formation accrue d'un principe diagétogème antagoniste de l'insuline ; ceci est à rapprocher du principe diabétogène de LOUIS et CONN, retrouvé dans les urines de patients atteints de diabète Lipoatrophique, et dans l'hypophyse de boeuf . Mais, il n'y a aucune action sur les FFA.

Cet effet sur la glycémie est retrouvé également par BRAUN et FABRY.

- AUTRES EFFETS BIOLOGIQUES -

- Sur la calcémie

Les peptides I et II, la substance H, la LMF et bien d'autres préparations hypophysaires ont un effet hypocalcémiant en particulier chez le lapin.

Mais, avec la LMF purifiée, TRYGSTADT ne retrouve plus l'action hypocalcémiante, et conduit à l'existence d'une impureté, ayant une action hypocalcémiante, et retrouvée dans les préparations de substance adipokinétique.

- Effet lethal

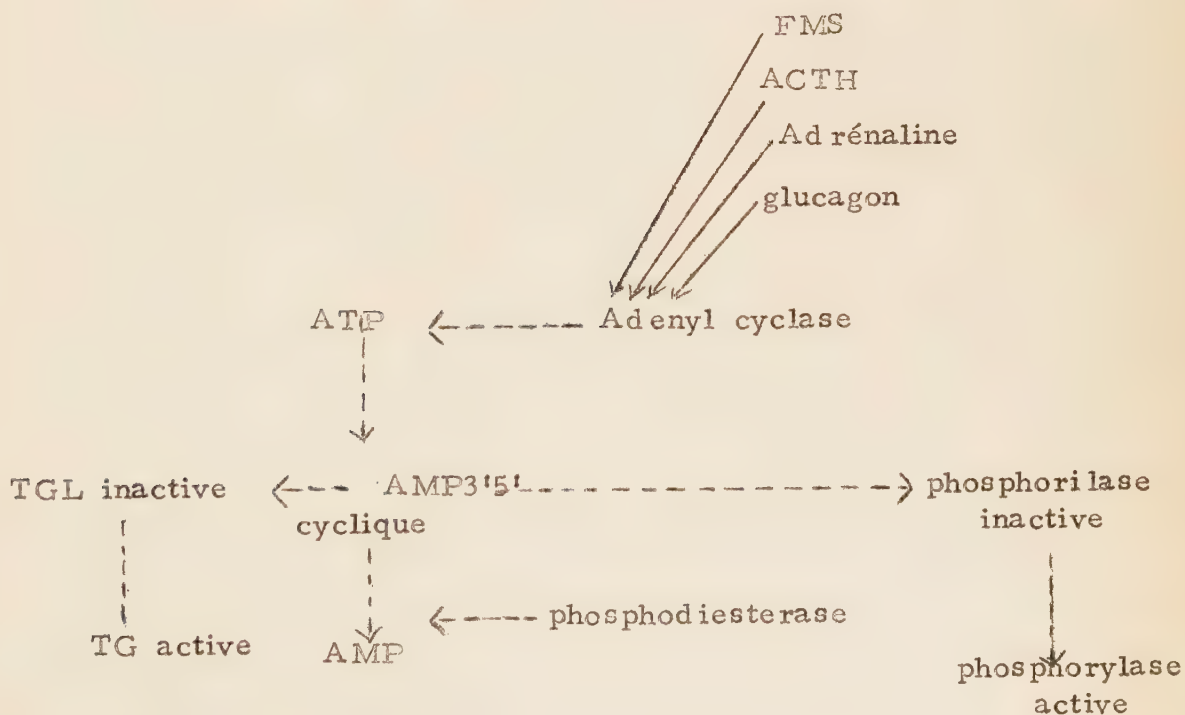
L'injection de grosses doses de peptides I et II, de LMF, entraîne une série de symptômes, avec fièvre, tachycardie, dyspnée, qui peuvent entraîner la mort. Plutôt que le taux élevé des FFA, c'est l'hypocalcémie qui est tenu pour responsable de ces troubles.

C - MODE D'ACTION

Il paraît univoque, et s'exerce uniquement sur l'AMP cyclique, enzyme nécessaire à l'activation de la triglycéride lipase.

L'ATP, sous l'influence de l'adényl cyclase, est transformé en AMP en AMP cyclique, qui donne lui-même naissance à l'AMP, sous l'influence d'une phospho di estérase.

L'augmentation de l'AMP cyclique peut donc être due soit à une activation de l'adényl cyclase, soit à une inhibition de la phospho di estérase. On admet le premier mécanisme pour le facteur lipomobilisateur ; c'est celui retenu pour les catécholamines, l'ACTH, le glucagon ; les facteurs agissant sur la phospho di estérase sont d'ailleurs peu connus.



D I S C U S S I O N

1) - Au terme de ces expériences, la réalité d'une substance hypophysaire à action lipomobilisatrice ne paraît plus faire de doute.

Néanmoins, quelques auteurs discutent cette possibilité. GALTON et BRAY, étudiant, sur des cellules adipeuses isolées de rat et d'homme, l'effet lipolytique de l'adrénaline, la STH humaine, l'ACTH l'ont comparé à celui d'extrait brut hypophysaire préparé à partir d'hypophyse humaine traitée par l'acétone.

Ils concluent que l'effet lipolytique de cette dernière préparation est négligeable.

Trois explications sont possibles :

- absence de substance lipomobilisatrice, hypophysaire
- présence de substance lipomobilisatrice, mais sous forme inactive,

- présence de substance hypophysaire inhibitrice de l'activité lipomobilisatrice. L'on peut ajouter qu'ils utilisent de l'hypophyse séchée par l'acetone, ce qui, pour TRYGSTADT, fait disparaître tout effet lipomobilisateur.

2) - L'étude des effets biologiques des différents produits isolés prête à discussion sur plusieurs points :

. Effet lipolytique

Si l'effet lipolytique paraît certain, la mesure de l'activité lipolytique des différents peptides étudiés, et la comparaison de ces activités est difficile, ceci tient aux différentes conditions d'expérimentation.

Quand l'expérimentation est pratiquée "in vivo", elle fait appel à l'homme et à différents animaux, dont les réactions

ne sont pas identiques.

Quand l'expérimentation est pratiquée "in vitro" ; les mêmes remarques sont à faire ; il faut rappeler en particulier que :

- le tissu adipeux n'est pas un tissu inerte, et sa physiologie est différente suivant l'endroit du prélèvement : sous cutané abdominal, périrénal, etc...

- le tissu adipeux d'espèces différentes est différent : ceci est surtout évident chez le rat et le lapin. Le tissu adipeux du lapin a des réactions assez différentes du tissu adipeux humain. Or c'est sur lui que sont pratiquées la plus grande partie des expérimentations.

- le tissu adipeux employé est du tissu entier, et non des cellules adipeuses isolées, ceci explique la possibilité de présence de substance inhibitrice, comme c'est le cas chez le rat.

. Effet sur le métabolisme des hydrates de carbone

Plusieurs auteurs, après injection, chez l'animal entier, de leur substance lipomobilisatrice, ont noté l'existence de variations de la glycémie. Ces variations sont principalement de deux ordres :

- D'une part, une hypoglycémie à la quatrième heure, retrouvée après injection de produit lipomobilisateur isolé aussi bien au niveau de l'hypophyse (LMF) qu'au niveau des urines (FMS). Cette hypoglycémie peut être due au produit lui même, mais il est également possible qu'elle soit due à une contamination par un facteur hypoglycémique particulier.

En effet, HUGGINS et OTTAWAY ont isolé de l'hypophyse un facteur hypoglycémiant, qu'ils séparent de la STH, et qui pourrait bien contaminer le peptide hypophysaire lipomobilisateur, fortement attaché à la STH.

D'autre part, BEATON et Coll. après purification de leur FMS urinaire (FMS I.B) , ne retrouvent plus d'effet hypoglycémiant.

- La deuxième modification du glucose sanguin retrouvée est une hyperglycémie tardive, qui dure plusieurs jours.

La aussi, il faut en rapprocher le facteur hyperglycémiant de LOUIS et de CONN, isolé soit des urines de malades présentant un diabète lipo atrophique, soit d'hypophyse de boeuf ou de mouton.

Ce facteur est un polypeptide dont l'injection, chez l'homme comme chez l'animal, détermine des anomalies de la courbe d'hyperglycémie provoquée, qui devient de type diabétique, et des anomalies de la courbe de sensibilité à l'insuline, qui devient plate.

Ces anomalies sont les plus nettes le jour qui suit l'injection, et persistent quatre à cinq jours.

3) - L'unicité ou la multiplicité des peptides lipomobilisateurs isolés, reste encore à prouver.

Cependant, nous avons déjà vu que, comparant les propriétés physico chimiques et biologiques de différents produits, l'on peut déjà identifier :

- le peptide II et la substance H
- le peptide I et la gamma LPH

Il est probable que, s'il ne s'agit peut être pas exactement de la même substance , les différents peptides isolés sont les dérivés d'un produit commun, les différences tenant

-aux différences d'extraction et de purification ,

- aux différents matériaux employés :

hypophyse de porc pour le peptide I et II

" " de mouton, de boeuf pour la LPH

" " de l'homme pour la LMF

urine de différentes espèces, pour la FMS.

4) - Il est plus intéressant de comparer les effets biologiques de facteurs lipolytiques, à ceux d'autres facteurs hormonaux, Cette comparaison peut se faire sur deux plans

= d'une part, comparaison de l'effet lipolytique de ces facteurs, connues : l'ACTH, la STH, l'Adrénaline.

- ASTWOOD, FRIESEN, et BARRETT comparent les effets des peptides I et II, et de la fraction H, de l'alpha intermedin, de la corticotrophim et de la STH, sur du tissu adipeux de rat et de lapin.

Doses minimales pour obtenir un effet lipolytique	Hormones ajoutées à un ml de tampon Krebs phosphate contenant 5 % d'albumine	
	Rat (μ g)	Lapin (μ g)
peptide I et II	10-50	01 - 02
peptide I		01
Fraction H		1
intermedin	10	01
corticotroplin	001	03-05
STH humaine	10-30	5-10

- LI et Coll, trouvent que leur bêta et gamma LPH ont une activité lipolytique identique, qui est bien inférieure à celle de la β MSH et à celle de l'ACTH

- TRYGSTADT compare les effets de la d LMF₁, produit le plus purifié, avec l'Adrénaline et l'ACTH.

Variations des FFA du sérum chez le lapin après injection de d LMF ₁ , d'Adrenaline et de sérum physiologique - concentration moyenne du sérum avec erreur standard -								
Adrenalin 0,25 mg	sé- rum physio 5ml	d L M F ₁						
		0,010mg	0,025mg	0,050	0,100mg	0,250mg	0,500mg	H. après injection
0,28 ± 0,01	0,24	0,27	0,28	0,23	0,24	0,25	0,28	0
0,25 ± 0,01	0,24	0,74	1,96	3,46	4,72	5,39	6,56	1
0,27 ± 0,01	0,24	0,66	1,92	3,82	4,80	5,64	6,95	2

Il compare ces effets in vivo (tableau ci-dessus) et in vitro (tableau ci-dessous).

45
1
Comparaison de la libération des FFA de graisse provenant de différents animaux. La graisse sous cutanée humaine est incubée avec de l'albumine humaine, les autres avec de l'albumine bovine.

Préparation ajoutée ug/ml	Libération					3 heures
	Lapin	Homme	moyenne après	des FFA, en µmol/100mg,		
			souris jaune obèse femelle	Souris Albino femelle	normale	Rat hypophysectomisé
0,00000 1	0,37					
0,0000 1	0,70					
0,0001	1,02					
1	0,001	1,68	0,67			
F	0,01	1,72	1,37	0,48		
M	0,1	2,63	2,67	1,10		
L	1		4,17	2,22	0,01	1,30
d	10			3,67	0,02	6,36
	100			5,79		10,68
Adrenaline	1		0,76			
ACTH	0,00001		0,60			
	0,1		7,91	3,59		3,38

- Pour CHALMERS, PAWAN et KECKWICK, l'activité de la FMS est quarante fois plus importante que celle de l'ACTH, mais moitié moindre que celle de l'Adrénaline.

- L'activité lipolytique la plus importante est celle de la d LMF₁. Il faut surtout remarquer que sur la graisse sous cutanée humaine, la LMF est non seulement active à doses physiologiques, mais que son activité est mille fois supérieure à celle de l'Adrénaline, la plus lipolytique des hormones connues.

= Activité des substances lipolytiques se rapprochant de l'activité spécifique des différentes hormones hypophysaires connues.

- Les peptides I et II ont une action mélanophore faible, considérée comme non spécifique, action que possèdent également la β LPH et γ LPH et la LMF.

- La LPH et la LMF ont une très faible activité de type ACTH.

Aucune activité de type STH, TSH ou gonadotrophine, n'a jamais été retrouvée.

5) - Tout ceci nous amène à discuter de l'individualité des substances étudiées.

La question posée en effet, est la suivante :
les peptides trouvés sont-ils un fragment d'une hormone connue, en particulier de la STH, la plus lipolytique des hormones hypophysaires,
ou sont-ils un produit spécifique, soit l'hormone elle-même, soit un fragment ou un produit de dégradation.

- Les relations entre la LMF et la STH ont été particulièrement étudiées par TRYGSTADT.

Une comparaison est faite par cet auteur entre les caractéristiques physico-chimiques et métaboliques de trois préparations :

- Une préparation de somathormone d'origine humaine, non purifiée, préparée d'après la méthode de ROOS, ayant un effet somatotropique et adipokinétique-hyperglycémique nommée rHG.

- une préparation de somathormone purifiée, ayant un effet somatotropique et sans effet adipokinétique-hyperglycémique dénommée t STH.

- une préparation de facteur lipomobilisateur purifié qui est le d LMF₁, préparé à partir de l'extrait brut hypophysaire, avant l'extraction de la t STH, et qui est sans effet somatotropique.

- L'électrophorèse en gel polyacrilamide montre qu'il existe :

 - 3 bandes pour la r HGH

 - 2 bandes pour la t STH

 - 1 bande pour la d LMF₁

Les bandes de la t STH et d LMF₁ correspondant aux 3 bandes de la r HGH.

Aux U.V., le maximum d'absorption des trois substances est identique, et se fait à 273 m/μ pour un pH de 10.

- le poids moléculaire, déterminé par filtration sur sephadex, est de :

 - 25 000 pour la r HGH

 - 21 000 pour la t STH

 - 5 500 pour LMF

- l'effet lipolytique de ces trois substances est étudié in vivo et in vitro, de façon comparative :

 - in vivo : il est presque nul pour la t STH

 - il est important pour la rHGH et la LMF.

- in vitro : il se fait dans un rapport de
100 - 10 - 1, respectivement pour la d LMF, rHG
et t STH.

- l'effet somatotropique est nul pour la
d LMF, important pour la rHG,
très important pour la tSTH.

- Sur les hydrates de carbone, la réponse est également différente :
- la STH n'a aucune action
- l'injection journalière de rHGH et de d LMF chez le lapin
entraîne une hyperglycémie qui dure respectivement neuf et 23 jours.

Si l'on injecte, en plus, de la prednisone ou de l'Adrenaline,
on obtient une réponse de type diabétique, et une augmentation de
la sensibilité à l'insuline.

Au contraire, une seule injection de LMF entraîne une diminution
de la sensibilité à l'insuline.

Enfin, l'ultracentrifugation préparative de la r HGG dans une
solution de sérum physio, donne un précipité qui a les caractères
de la STH, et un surnageant, qui a des effets hyperglycémique et
hyperlipicémique.

De même, la précipitation par l'acétone, et la filtration par
Sephadex, permet la séparation de la r HGH en deux composants.

On peut donc se demander si la LMF est un fragment de la
molécule de r HGH ou si la LMF n'est qu'une contamination fortement
aggrégée avec la STH.

D'après TRYGSTADT, la première de ces possibilités
expliquerait le titre élevé d'anticorps anti r HGH et t STH chez
les lapins, immunisés avec la LMF, alors qu'il n'existe pas
d'anticorps anti LMF.

Elle expliquerait également l'augmentation de l'activité lipolytique
de la t STH après hydrolyse, ce qui suppose que la molécule
de somathormone possède un fragment adipokinétique.

La deuxième de ces possibilités, par contre, c'est-à-dire l'indépendance de la molécule de LMF, est suggérée par la désintégration de la r HGH à l'ultracentrifugation, et la nécessité pour l'aggrégation de la STH et de la LMF, d'ajouter un facteur hypocalcémiant. De plus, les mécanismes d'action lipolytique de la STH et de la LMF sont différents. L'action de la première est inhibée par la dactinomycine, alors que celle de la LMF comme celle de l'ACTH ne l'est pas.

De même, l'activité lipasique de la graisse de souris obèse hyperglycémique, est stimulée par l'ACTH et la LMF, mais non par la STH.

Les propriétés lipomobilisatrices de la somathormone et de la LMF ne varient pas de la même façon quand se modifie le niveau de la glycémie.

Les propriétés lipomobilisatrices de la somathormone sont beaucoup plus marqués si l'expérimentation est faite sur des sujets à jeun, et complètement inhibée par l'administration suffisante de glucose, alors que la LMF est aussi active dans ce cas.

- S'il est impossible de l'affirmer, il existe bien davantage d'arguments en faveur de l'indépendance du facteur lipomobilisateur et de la somathormone.

6) - Le facteur lipomobilisateur joue-t-il un rôle dans la physiologie normale de l'individu ?

L'on est bien loin encore de cette réponse. On peut seulement dire que le facteur LMF est actif à des doses physiologiques.

Rappelons par contre que dans les urines de sujets normaux, on n'a jamais pu isoler le facteur FMS.

En pathologie, le rôle du facteur lipomobilisateur peut être évoqué dans de nombreux cas.

Rappelons que le facteur urinaire FMS, a été retrouvé dans les

urines de malades atteints de diabète océtose, de cachexie, d'anorexie mentale, etc...

Son rôle dans l'obésité est très discutable. On pourrait évoquer une insuffisance de sécrétion, ou une inactivation trop rapide, ou encore un trouble de réceptivité périphérique ; mais, si cette pathogénie était exacte, chez l'obèse, on devrait retrouver une anomalie de la libération des acides gras libres. Or, cette libération semble à peu près normale, en tout cas au début du jeûne.

. Après une nuit de jeûne, le taux des FFA de l'obèse est identique, ou supérieur, à ce que l'on peut trouver dans les mêmes conditions chez le sujet normal.

Rappelons que KERWICK et PAWAN extraient leur FMS des urines de sujets obèses, soumis seulement à 48 de jeûne.

Donc, tout au moins au début du jeûne, la libération du facteur lipomobilisateur paraît normale.

Ceci est plus discutable par la suite, car chez un obèse, soumis au jeûne prolongé, le taux des FFA paraît plus faible que celui d'un individu normal dans les mêmes conditions.

Quant à l'éventualité d'une substance inhibitrice, qui serait libérée plus rapidement ou en quantité plus importante chez l'obèse, signalons, sans commentaire possible, l'expérience suivante de TRYGSTADT :

L'action adipokinétique de la FMS chez le lapin, est inhibée par l'adjonction de sérum humain de sujets non obèses.

L'adjonction de sérum humain de sujets obèses a donné des résultats variables : dans une première série, il n'y a eu aucune différence entre l'action des sérums de sujets obèses et non obèses ; dans une deuxième série, par contre, l'inhibition fut fortement diminuée ou supprimée.

- Dans le diabète lipo atrophique, l'effet lipomobilisateur de la LMF, chez le lapin, toujours selon TRYGSTADT, qui est inhibé par le sérum de sujet normal, ne l'est pas par de sérum de six enfants lipodystrophiques.

On peut donc émettre l'hypothèse qu'il existe, chez ces sujets une absence d'inhibition normale de la substance adipokinétique.

C O N C L U S I O N

Le problème de l'existence d'une hormone spécifiquement lipomobilisatrice, d'origine hypophysaire, est soulevé depuis de nombreuses années.

Divers auteurs ont cherché à l'isoler, soit dans les urines, soit directement au niveau de l'hypophyse.

Notre étude comporte deux parties :

- Dans une première partie, les différents travaux publiés sont rapportés ; les méthodes d'extraction et de purification, la caractérisation et les effets biologiques des substances isolées des urines comme de l'hypophyse, sont précisés.
- Dans une deuxième partie, ces effets sont analysés, et comparés à ceux d'autres hormones connues, et la nature spécifique du produit est discutée.

I - Le principal facteur extrait des urines est le F.M.S. (Fat Mobilizing Substance), de CHALMERS, KERWICK et PAWAN. Il est composé d'un peptide attaché à un résidu glucose. Il est identique chez l'homme et chez les différentes espèces animales.

Son activité est avant tout lipomobilisatrice :

- injecté chez l'homme ou l'animal, il entraîne une élévation du taux des acides gras libres.
 - incubé avec du tissu adipeux, il entraîne une libération importante d'acides gras libres.
 - injecté pendant une période suffisante, il entraîne une perte de poids.
- de plus, il possède une activité hypoglycémiante discrète.

Ce facteur est retrouvé dans les urines de sujets normaux à jeun, mais également dans de nombreuses affections s'accompagnant de maigreur.

En modifiant cette technique, STEVENSON, et Coll. obtiennent une substance plus purifiée, dont l'activité hypoglycémique a disparu, et qu'ils nomment F.M.S.I.B.

- Les substances lipomobilisatrices isolées de l'hypophyse sont plus nombreuses et il est plus difficile de les comparer.

- ASTWOOD et collaborateurs isolent de l'hypophyse de porc deux peptides, peptide I et peptide II, dont le poids moléculaire est de, respectivement 5000 et compris entre 10 et 20 000, qui possèdent une activité lipomobilisatrice importante in vivo et in vitro sur le lapin et le rat.

- RUDMAN isole la fraction H, identique au peptide II.

- LI et collaborateurs, isolent de l'hypophyse de boeuf et de mouton, deux peptides, la β LPH et la γ LPH, composés respectivement de 90 et de 56 acides aminés, possédant une activité lipolytique importante chez l'animal.

- TRYGSTADT est le seul à isoler un peptide lipomobilisateur d'hypophyse humaine, la LMF. Ce produit, dont le poids moléculaire est d'environ 5000, a une activité importante aussi bien chez l'homme que chez l'animal, de plus il a une action nette sur le métabolisme des hydrates de carbone.

2 - La discussion de ces travaux porte sur plusieurs points :

- l'effet lipomobilisateur des différents substances est assez difficilement comparable, car les méthodes d'expérimentation et le matériel d'étude varient. La plus active est la LMF, isolée chez l'homme.

Cet effet est comparé à celui d'autres hormones lipomobilisatrices : Adrénaline et ACTH surtout.

Pour la LMF, l'activité du produit purifié paraît être chez l'homme, mille fois supérieure à celle de l'adrénaline.

- Le mécanisme d'action est le même pour toutes les substances c'est une activation de la triglycéride lipase par activation de l'AMP cyclique.

- L'effet retrouvé sur le métabolisme des hydrates de carbone est peut être indépendant de la substance elle-même, et on peut le rapprocher de deux substances hypophysaires isolées récemment, l'une à action hypoglycémiant, l'autre hyperglycémiant.

- Le problème posé est celui des relations de la substance hypophysaire lipomobilisatrice, avec d'autres hormones hypophysaires ; est-elle une substance autonome, ou fait-elle partie d'une hormone hypophysaire connue, en particulier STH.

L'analyse étroite des rapports entre ces deux produits semble plutôt en faveur de leur indépendance, bien qu'on ne puisse l'affirmer.

- Enfin , le rôle possible de ce facteur dans quelques cas pathologiques peut se discuter, car il est retrouvé présent dans les urines de malades présentant des affections telles que le Diabète Lipo Atrophique.

Vu le Doyen,

Vu, le Président de Thèse

Mr. le Pr. BROUET

Mr. le Pr. LAROCHE Claude

Vy, le Recteur,

Mr. MALLET

B I B L I O G R A P H I E

ANSELMONO K. J. - HOFFMANN F.

Über des Fettstoffwechselhormon des hypophysenvorderlappens
(lipotropin) und seine bedeutung für die Fettumsetzung unter
physiologischen und pathologischen Bedingungen. DEUTSCHE
MEDIZ. WOCHENSCHRIFT. 1965, 90 : 1697

ANSELMONO K. J. - HOFFMANN F.

Abderaldens Handbinder biolog. Arbeits. methoden, Abt.
Vol, 3 b. 1936, 873.

ANSELMONO K. J. - HOFFMANN F.

Z. Klin Med. 129, 1935 - 24

ANSELMONO K. J. - HOFFMANN F.

Klin. Wschr. 10 - 1931 - 2380

ASTWOOD E. D. - BARRETT R. J. - FRIESEN H.

Two metabolically active peptides from porcine pit. glands.
Proc. soc. Nat. Acad. Sci. Us. 47, 1525 - 1961.

BEATON J. R. - SZLAVKO A. J. - STEVENSON J. A.

Extraction and chemical characteristics of anorexigenic and
F.M.S. from rat urine. CAN. J. PHYSIOL. PHARMAC. 42 :
647 Beaton

BEATON J. R. - SZLAVKO A. J. - STEVENSON J. A.

Purification by ultracentrifugation of a fat mobilizing
substance from urine of fasting rats.

Canad. J. Physiol. Pharmacol. 1966, 44 : 701

BEATON J. R.

Anorexigénie matériel from urine.

Canad. J. of Physiol and Pharmacol ; Vol. 47 , n°3, mars 1969

BEATON J. R. - SZLAVKO A. J. - STEVENSON J. A.

Diet and temperature effects on excretion of F.M.S. in
urine. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 118, n°2, 362-65, 1969

BIRK Y. - LI Ch.

Isolat. and properties of a new biolog. active peptide
from sheep pituit. glands.

J. Biol. chem. 1964, 239, 1048

BJORNTORP P. - GOTHENBURG.

Lipid Mobilization from human subcutaneous adipose tissue
in vitro. Acta Med. Scand. 182 n°6, 717-26 1967

BRAUN T. - FABRY

Factor in human urine inhibiting lipid

Experientia 19 : 319 1963

BRAUN T. - FABRY P.

Lipid mobilization and hypoglycemic activity of pituitary
homogenates from alloxan Diabetic rats.

Experientia 22 n°3 152-53 , F 13 657 1966

BRAY C.A.

Effects of epinephrine cortic, thyrot on lipolysis.

J. Lipid Res. 8 : 300-7 1967

BURNS T. - HALES C.N. - HARTREE A.

Observations on the lipolytic activity of human serum and
pituitary fraction in vitro.

J. Endocrin. 39, n°2, 213-25, G. 34.669 , 1967

BURNS T. - HALES O.N.

Lipolytic activity of human pituit fraction on isolated
human Adip. Tiss. Cells.

Lancet 7 473, III - 3 1966

BURNS - HALES

Regulation of lipolysis in isolated human Adip. Tiss.

Cells. Lancet, i, 796, 1966

BURNS T.W. - HALES C.N. - HARTREE A.S.

In vitro lipolytic activity of human Pituitary fractions
J. CLIN. RES. 15 N°1. 61. 1967.

CAHILL G.F. - PAWAN G.L.S. - CHALMERS.

Effect of FMS on mb of glucose in rat adipose tissue
Endocrinology 69 : 648 1961

CAMPBELL J. - RASTOGI K.

Serum Insulin, glucose, protein and FFA responses to
corticoid in the dog.
Diabetes 16 N°7 520 1967

CHALMERS T.M.

Post. Grad. Med. J. 40 - 1864 464

CHALMERS T.M. - KERWICK A. - PAWAN G.L.S.

Fat Mobilizing Activity of human urine
Lancet 1 : 866 1958

CHALMERS T.M. - KERWICK A. - PAWAN G.L.S.

FMS Activity of human urine and ketogenic activ.
Relat. to Cortico. and STH
Lancet 2 : 6 1960

CHRETIEN M. - LI Ch.

Isolation, purification and characterisation of J. lipotropic
hormone from sheep pituitary glands.
CAN. J. Biol. 45 n°7 1163 - 74 , 1967

COKBURN F. - HULL D. - WALTON I.

The effect of lipolytic hormones and theophylline on heat
production in brown adipose tissue in vivo
Brit. J. Pharmacol. 13 n° 3, 568-77 1967

COMBRET Y. - LAUDAT P.

Données récentes sur les phénomènes de lipolyse au niveau
du tissu adipeux.

Rev. Franç. et Clin. Biol. 4 : 329 - 340 1968

DE GENNES J. L. - WOLF L. M. - LAUDAT P. - DECOURT J.

Etude de la réponse au jeûne des AGL du sérum dans les
obésités

ANN. ENDOCR. 25 : 21 1964

DOLE V. P. - MEINERTZ H.

Micro determination of long chain fatty acids in plasma
and tissues

J. Biol. Chem. 235 - 2595 1960

DOLE V. P.

A relation between non - esterified fatty acids in plasma
and the metabolism of glucose.

J. C. I. 35 - 1956 p. 150

ENGEL F. L. - KOSTYO J. L.

The hormones physiologic, chemistry and applications

Acad. Press. London Vol. 5 n° 7 128, 1964.

FAIN J. N. - KOUACEU

Effect of STH and DTM on lipolysis and metabolism in
isolated fat cells (rat)

J. Biol. Chem. 240, 3522, 1965

FORSYTH J. H.

Deposition and mobilization of FFA in adipose T

Metabolism 17 502 - 14 Juin 1968

FRIESEN H. BARRETT A. J. - ASTWOOD

Metabolic effects of 2 peptides from the anterior pituit. gland.

Endocrinology 70 : 579 - 1962

FRIESEN H.

Pituitary peptides and fat mobilisation

Metab. Clin. Exptl. 13 : 1214 1964

FRIESEN H.

ENDOCRINOLOGY 75 1964 692

FRIESEN H.

Pituit. peptides and fat mobilisation

Metabolism 13, 1214 1964

FRIESEN H. - IRIE - BARRET R.J.

An immunologic study of two active peptides from
the anterior pituit. gland.

J; Exptl Md 115, 513, 1962

FERGUSON - WALLACE

Nature 190 : 629 1961

GALTON P.J. - BRAY G.A.

Studies on lipolysis in human adipose cells.

J.C.I. 46, n°4 621-29 1967

GOTH A. - HEGEDUS A.

PMS in the urine of patients with diabetes and with
pituitary diseases, and the effect of insulin on its action.

Experientia 21 N°5 277-78 1965

HARTREE

Biochem. J. 100, 754 1966

HIRSCH R.L. - RUDMAN D.

Movement of lipids into and out of the blood during
induced in rabbit by pituitary extract and fraction H.

J. Lip. Rev. 7 n°2 182-87 1966

HOLLOBAUCH S.C. and. Coll.

Diabetogenic action of HGH : Glucose FFA interel
Metabolism 17 485-91, Juin 1968

HUGGINS A.K. - OTTAWAY J.H.

Purific and properties of a hypoglycemic peptide from
o4 ? growth hom.
J. Endocr. 23 : 193 1961

JUNGAS R.L. - BALL E.G.

Studies on the MD of adip tissue. XII. The effect of
insul. and epinephrine on FFA on glycerol product. in
the présence and absence of glucose
Bioc. Mistry 1963 2,383

KARVINEN E. - MIETTINEN M. - KARVONEN M.J.

Fat mobilizing activity of human fasting urine ANN. MED.
EXPER. FENN. 40. 263 1962

KERWICK A. - PAWAN G.L.

Fat mobilizing substance
Metabolism 16 : 787 - 96 sept. 1967

KERWICK A. - PAWAN G.L.S.

Comparison of effects of thyrot. F MS and food deprivat
in weight loss in mice
Metabolism 12 222 1963

KEKWICK A. - PAWAN G.L.S.

Effect of high fat and high H.C. diets on rates of weight
loss in mice
Metabolism 13 87 1964

LEPKOFSKY S.A. - NIR I.

Fms in chicken urine
Canad. J. Physiol Pharm. Vol. 47, n° 9, p. 435 1969.

LEITES S.M. - DAVTYAN N.K.

Effect of the lipophyscil preparation adiposin on the
lipolytic activity of adipose tissue and on serum FFA
BVUL. EKSP. BIOL MED 55 n°5 529-31 1964

LI Ch.

Lipotropin, a new active peptide from pituit glands
Nature 201 : 924 1964

LOHMAR P. - LI Ch.

Bovine B L P H
Bioch. Bioph. Acta 147 n°2 381-83 1967

LOHMAR P. - L I CH;

Biol. propert. of ovine p lipotropci hormone
Endochrinol 82 898 - 904 May 1968

LI Ch. PAPKOFF H.

Hormone sturdine and biol. activ. of three pituit. Hor.
J. Chem. Ed. 43, 41 - 6 janvier 1966

LIPOVETSKY B.M.

The effect of LMT isolated from the plasma of fasting
individuals, on experimental atherose
Patol Fizio ; Eksp. Teraplya II n°4 33-36 1967

LIPOVETSKI B.M.

Effect of L.M.F. of the hypophysis isolated from the human
blood, on the blood lipids.
Patol. Fiziol. Eksp. Terapya 9 n°1 49 - 52 1965

LOUIS L.H. - CONN J.W.

Lopootroph. diabeter isolation and caractérisation of an
insulin aritag from urine
Metabolism 12 : 867 - 826 1963

LAWRENCE H. - LOUIS L.H.

Lipoatrophic Diabetes and improved procedure for the isolation and purification of a diabetogenic polypeptide from urine.

Metabolism Vol. XVIII, juin 1969, n°7, p. 545

LOUIS L.H. - CONN J.W.

A urinary diabetogenic peptide in proteinuric diabetic patient

Metabolism vol. XVIII, juillet 1969; n°7 p. 556

LOUIS L.H. - CONN J.W.

A diabetogenic polypeptide from hog and sheep adenohypophysis similar to that found in lipoatrophic diabetes

Metabolisme 17 475 - 85 Juin 1968

LOUIS & CONN

Diabetogenic polypeptide from bovine adenohypophysis similar to that excreted in diabetes mellitus.

Metabolism 15 : 309 - 24 avril 1966

LOUIS L.H. - CONN J.W.

Isolation of a peptide from bovine adenohypophysis which induces hyperglycemia and insulin resistance in men and dogs

Diabetes 14 : 445 1965

LOUIS L.H. et Coll.

Isolation of an insulin antagonist from urine of patient with lipoatrophy. Diab.

J. Lab. Clin. Med. 60 : 995 1962

MOSINGER B.E. et Coll.

Action of adipokinetic hormone on human adipose tissue in vitro

J. LAB. CLIN. MED. 66 380 1965

PAYNE -

Studies on FMS of anterior pituitary gland

Endocrinology 45 305 1949

PETERSON M.J. - HILLMAN O. - ASHMORE J.

Studies on the mechanism of lipid mobilization from adipose tissue of diabetic rats.

Pharmacologist 9 n°2 254 1967

FENHOS

Effect of S T H Metabolism 15 : 1109 - 19 Déc. 1966

FENHOS

Effect of insulin on..

Metabolism 17 : 246 - 59 mars 1968

PINTER E.J.

Fat mobilizing action of amphet.

J.C.I. 47, n°2 , 394 - 402 1968

RABEN M.S.

Récent prog. in hormon. res. 15 : 7 1959

RABEN M.S. - LANDOLT R. - SMITH F.A. - HOFMAN F. -
YAJIMA H.

Adipokinetic activity of synthetic peptides related to corticotrophin

Nature 189 : 681 1961

RABEN M.S. - WESTER MAYER V.W.

Proc. Soc. Exp. Biol. N V 80 : 83 1952

RABEN M.S. - HOLLENBERG C.H.

STN and mobiles of fatty acids

Ciba Foudat. Colloq. Endoca. 13 : 89 1960

RANDLE P.J. - GARLAN P.B. - HALES C.M. - NEWSHOLME E.A.

The glucose fatty acid cycles

Lancet 1 : 785 1963

RUDMAN D. - SEIDMAN F.

Lipernia produenig activity of pituit gland : separad. of a
lip. prod. comp. from other pituit hormones
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 103 : 315 1960

RUDMAN D. - DI GIROLAMO M. - SEIDMAN F.

Purification and properties of a component of the pituit
Grand which produces lipenia in the rabbit
Endocrinology 68, 173 1961

RUDMAN D. - HIRSCH R.L. - KENDALL F.E.

An adipokinetic component of the pituitary gland. purification,
physic. chemicol and biolog. properties
Recent Progr. Horm. Rev. 18 89 1962

RUDMAN D. - BROWN S.J. - MALKIN M.F.

Adipokinetic action of adreno corticotropin thyroid S.
H vaso pressin , x et B MSH , fraction H, epin in rabbit
Hamster...
Endocrinology 72 527 1963

RUDMAN D.

The adipokinetic action of polypept and amine hormones upon
the adipose tissue of various animal specim.
J. Lip. Res. 4 : 119 1963

RUDMAN D. - DEL RIO A.E.

Responsitenss to lipolytic hormoner, and inactivation of
adreno croticopropin, by dispose tissue silices and free fat
cells from mammalian specia
Endocrinology vol. 85 août 1969 n°2 p.209

RUDMAN D.

The mobilization of F.A. from adipose tissue by pituit.
peptides and catechol.
Ann. NY acad. Sci. 131, 102 1965

RUDMAN D. - GARCIA L.A.

Dose response curves for the adipokinetic action of apromatic amines and adrenocorticotropin upon the isolated adip. tissue of the hamster. J. Lip. Res, 1964 , 5 : 28

SEIFTER J.S. - BAEDER D.H.

Lipid Mobilizer from posterior Bilintary of hogs
Proc. Soc. Exp. Biol. (NY) 95 : 318 1957

SEIFTER J. - SEIFTER E.

Occurence of a lipid mobilizer in human urine
ABSTR. PAPERS, A.M.CHEM. SDS. 1967, n° 153, 29 M

SENFT G.

Hormonal control of H.C. and Lip. and ding induced alteratin
ARCH. PHARM. EXP. PATHOL. 259 n° 2 117.48 1968

SHAFRIR E. - GORIN E.

Adease of glycerol ni conditions of fat mobilization and deposition
METAB 12, 580 1963

SHIONOGI - OTOSUKA

Syntheses of peptides relates to the N termin. Structure of corticotropin III-synthèse of L-Histidyl L-Ynilatanyl L Arginyl L-tryptophan, the smallest peptide exhibiting the melanocyte stimulat and the lipolytic activ.
Bull. Chem. Soc. Japan 37 n° 10 1465-71 1964

STEVENSON J.A.F. - BOX B.H. - SZLAVKO A.T.

A fat mobil and anorectic subst. in the urine of fast, rats, PROC. SOC. EXP. BIOL. MED. 115 - 424 1964

TANAKA A. - PICKERING B.T. - LI Ch.

Relationship of chemical stinchire to in vitro lipolytic activity of peptides.
ARCH. BIOCH. BIOPH. 99. 294 1962

TRYGSTAD O.

The L. M. effect of some pituit. gland. prepar. II evidence for a lipotropic contaminat. with rabbit serum calcium lowering effect in ad renocort. ...

ACTA ENDOGR. 56 N°4 626.48 1967

TRYGSTAD O.

Preparation of a human pituitary L. M. F. with hypocalcemic and hyperglycemic effects in rabbits

Acta Endocr. 57 N°1 81. 108 1968

TRYGSRADT O.

The lipid mobilizing effect of some pituitary gland preparations n° III

Acate Endocrinolog. 58 ; 277-294 1968

TRYGSTADT O.

The lipid mobilizing effect of some pituitary gland preparations n° IV

Acta Endocrinolog. 58. 295. 317 1968

WEIL R. - STETTEN

The urinary excretion of a lipid mobilizing agent

J. Bioc. Chem. 168. 129 1947

VINCENT J.E. - DE VIRIES J.W.

Some effects of a lipid mobiliz. prepar. of pituit. origin.

Acta endocrin. Suppl. 100 142 1965

ZARAFONETIS J.D. - BRODY G.L.

Lipid mobilizer Hormone in triton hyperlipemier

Proc. Soc. Exp. Biol. 125 N°1 321. 24 1967

ZARAFONETIS J.D. - BARTLETT R. - BRODY G.L.

L. M. H. in COBALT chloride Hyperlipem.

J. AM. MED. ASSOC. 191 N°3 235. 37 1965

